

갑상선유두암에서 Galectin-3, p53, Ki-67 단백질의 발현과 임상학적 의미

한림대학교 의과대학 한림대학교 성심병원 유방내분비외과학교실

김병섭 · 강경호 · 임영아 · 김이수

Clinical Significance of p53, Ki-67 and Galectin-3 Expressions in Papillary Thyroid Carcinoma

Byung Seup Kim, M.D., Kyung Ho Kang, M.D., Young Ah Lim, M.D., Lee Su Kim, M.D.

Division of Breast and Endocrine Surgery, Hallym University Sacred Heart Hospital, College of Medicine, Hallym University, Anyang, Korea

Purpose: There are few molecular markers useful in practice for predicting prognosis of papillary thyroid carcinoma (PTC) despite numerous basic researches. The objective of this study was to evaluate the prognostic values of several candidate markers of PTC (p53, Ki-67 and galectin-3) using immunohistochemistry (IHC), one of the most practical methods.

Methods: IHC for p53, Ki-67 and galectin-3 were performed on formalin-fixed paraffin-embedded tissues of 160 PTC specimens using monoclonal antibodies. The associations of the expressions of these markers with multiple clinicopathologic prognostic factors were assessed.

Results: The overexpression rates of p53, Ki-67 and galectin-3 were 48.8%, 64.3% and 97.8%, respectively. Overexpression of p53 protein was positively associated with extrathyroidal extension ($P < 0.001$). In addition, p53 immunoreactivity was more prevalent among Ki-67 overexpressed specimens ($P < 0.001$). Ki-67 immunoreactivity was positively correlated with tumor size ($P < 0.05$), which became more distinct when accompanied with p53 overexpression ($P < 0.01$). In contrast, no relationship between galectin-3 immunoreactivity and clinical prognostic factors was found.

Conclusion: Our results suggest that overexpression of p53 protein and Ki-67 in papillary thyroid carcinoma is associated with tumor progression and that IHC for these proteins could be useful for predicting prognosis of patients with PTC. (J Korean Surg Soc 2009;77:29-36)

Key Words: Papillary thyroid carcinoma, p53, Ki-67, Galectin-3

중심 단어: 갑상선유두암, p53, Ki-67, Galectin-3

서 론

갑상선암은 전세계적으로 가장 급속히 증가하고 있는 암

책임저자: 김이수, 경기도 안양시 동안구 평촌동 896번지
☎ 431-070, 한림대학교 성심병원 유방내분비외과
Tel: 031-380-5930, Fax: 031-384-0208
E-mail: lskim0503@hallym.ac.kr

접수일 : 2009년 2월 27일, 게재승인일 : 2009년 4월 7일

중의 하나이며, 최근의 중앙암등록본부에서 발표한 자료에 의하면, 2005년 이후 한국 여성에게 가장 흔히 발병하는 암이다.⁽¹⁾ 이는 갑상선 초음파검사와 이를 이용한 미세침흡인세포검사가 널리 시행됨에 따라, 갑상선미세유두암(thyroid micropapillary carcinoma)의 진단이 크게 증가하였기 때문으로 생각되며, 현재 갑상선유두암은 새로이 진단되는 갑상선암의 90% 이상을 차지하는 것으로 알려졌다. 갑상선유두암은 일반적으로 천천히 자라고 매우 예후가 좋

으나, 일부는 반복적으로 재발을 일으키기도 하고, 결국 사망에 이르기도 한다. 후향적인 연구들에 의해 알려진 갑상선유두암의 예후인자로는 나이, 성별, 종양의 크기, 주변 조직의 침습, 조직학적 아형, 림프절전이 및 원격 전이 등이 있다.(2,3) 최근에는 좀더 정확한 예후의 예측을 위해 분자생물학적인 방법을 통해 생물학적 표지자를 찾아내려는 시도들이 활발히 이루어지고 있으나, 현재까지 실제 임상에서 갑상선유두암의 예후 인자로 쉽게 사용될 수 있는 분자표지자는 거의 없는 실정이다.

p53은 암 억제 유전자로, 모든 악성종양의 약 50%에서 돌연변이가 발견되어, 인간의 악성세포에서 발생하는 가장 흔한 유전적 변화이다.(4) 정상적으로 합성된 p53단백질은 p21을 활성화시켜 G1기에서 S기로 진행하지 못하도록 세포주기를 조절하며, BAX pathway를 통해 세포자멸사를 유도하는 역할을 하는 것으로 알려져 있다. 갑상선암에서 p53의 돌연변이는 분화갑상선암이 미분화암으로 진행되는 원인이 되는 것으로 추정된다.(5,6) 또한 Ki-67은 핵항원의 하나로 G1 말기, S기, G2기, M기 등 증식하고 있는 세포에서만 발현되므로 종양세포의 증식도를 평가하는 표지자로 이용되고 있다.(7)

갑상선유두암의 진단에 보조적으로 흔히 이용되는 표지자인 galectin-3는 베타 갈락토시드(β -galactoside)에 결합하는 단백질인 갈렉틴 족(galectin family) 중 하나로, 악성세포 전환, 혈관신생(angiogenesis), 세포부착(cell adhesion)에 관여하며, 염증반응을 매개할 뿐 아니라 특히 cisplatin, 5-FU, 허혈 손상, 방사선 조사 등의 pro-apoptotic stimuli에 의하여 발생하는 세포자멸사(apoptosis)를 억제하는 역할을 하는 것으로 알려져 있다.(8) 이 단백질은 전술한 바와 같이 갑상선유두암에서 그 진단적인 가치를 인정받고 있으나 예후와의 관련성은 잘 알려지지 않았다. 생물학적 분자 표지자를 연구하는 여러 가지 방법 중 면역조직화학법은 조직에서 단백질의 발현을 평가할 수 있는 매우 실용적인 방법이다. 더불어 어느 정도는 정량화가 가능하며, 단백질 발현의 위치도 알 수 있으며, 인산화와 같은 기능적으로 중요한 전사 후 변이과정(post-translational modification)도 평가할 수 있는 장점들을 가지고 있어서 임상에서 가장 흔히 이용되고 있는 분자생물학기법 중 하나이다. 본 연구에서는 갑상선유두암에서 p53, Ki-67, galectin-3 단백질의 면역조직화학 발현을 조사하고, 예후인자로서의 가치를 평가하기 위해 시행되었다.

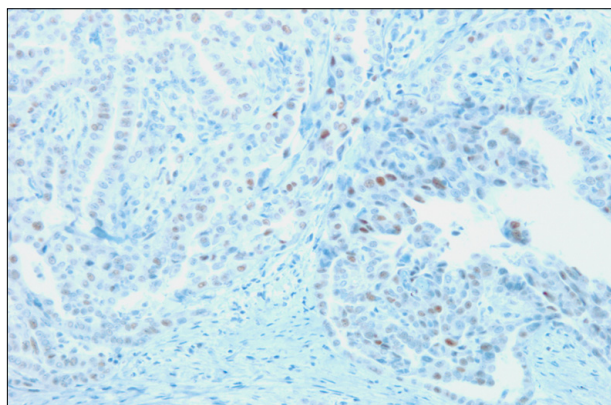
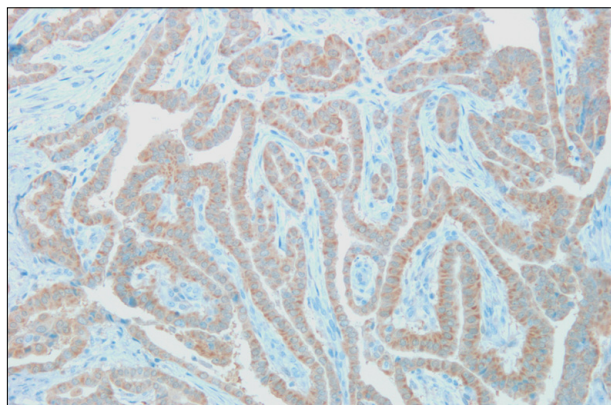
방 법

2004년 12월부터 2008년 6월까지 한림대학교 성심병원 외과에서 갑상선 절제술 후에 시행한 병리조직검사에서 갑상선유두암으로 진단받은 489명의 병리조직을 대상으로 후향적 연구를 시행하였다. 대상 환자들의 진단 시 나이는 최소 12세, 최대 78세였고, 평균은 47.2 ± 11.5 세였다. 남자 대 여자의 비율은 1 : 8.6이었다. 대상 환자 중 5예에서 갑상선엽절제술 혹은 아전절제술을, 159예에서 갑상선 전절제술을, 276예에서 갑상선 전절제술 및 중심경부림프절 광청술을, 49예에서는 갑상선 전절제술 및 편측 혹은 양측 변형근치적경부림프절 광청술을 시행하였다. 수술 후 병리조직학적 검사와 병행하여 정례적으로 galectin-3, p53, Ki-67 단백질의 발현을 단일클론항체를 이용한 면역조직화학법으로 조사하였으며, 이 단백질들의 발현과 환자의 임상병리학적 변수들과의 관련성을 분석하였다.

염색 과정은 통상적인 streptavidin-biotin complex 방법을 사용하였으며, 염색의 질 향상과 균일화를 위하여 Ventana사의 Kit와 자동 면역조직화학 프로세스(Beckmark[®] XT, Ventana Medical System, USA)를 이용하였다. 포르말린 고정과 파라핀 포매를 거친 조직을 $5 \mu\text{m}$ 두께로 연속된 세 개의 절편을 만들어 xylene으로 탈파라핀 처리하고, 각 절편에 대하여 면역조직화학적 염색을 시행하였다. 단백질의 항원성을 유지하기 위해 극초단파(microwave oven method)를 이용하여 끓는 phosphate buffered saline에 처리 후, 내인성 peroxidase의 활성을 억제하기 위해 과산화수소를 도포하고 희석된 정상 염소 혈청(Zymed, USA)을 도포하여 비특이적 결합을 억제하였다. 그 후 1 : 100으로 희석된 1차 항체인 galectin-3에 대한 단클론성 항체(mouse monoclonal antibody, Novo Castra, UK)를 상온에서 2시간 반응시키고, 2차 항체인 biotinylated link antibody (LSAB kit, DAKO, USA)와 20분간 반응시킨 후 PBS로 세척하였다. Streptavidin (Zymed, USA)과 peroxidase가 결합된 용액에 30분간 반응시키고, 이후 발색반응은 3,3-diaminobenzidine tetrachloride (DAB, sigma)로 발색시킨 다음 Meyer's hematoxylin으로 대조 염색 후 흐르는 물에 세척하여 실온에 건조시킨 후 봉입하였다. 이때 항원재생(antigen retrieval)은 매뉴얼에 따른 자동 염색기 내부에서의 가열방법을 사용하였다. 사용된 항체는 galectin-3, p53, Ki-67이고 각각 1 : 300, 1 : 200, 1 : 100의 비율로 희석하였다(Table 1).

Table 1. Details of primary antibodies used

Antibody against	Clone	Source	Dilution
Galectin-3	Mouse monoclonal	Cell marque	1 : 300
p53	Mouse monoclonal	Novoscastra	1 : 200
Ki-67	Mouse monoclonal	Novoscastra	1 : 100

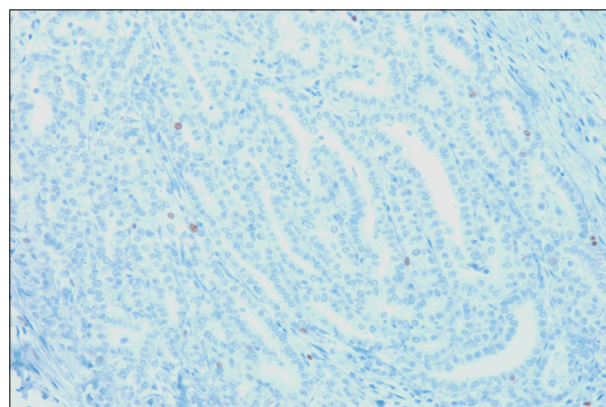
**Fig. 1.** Immunohistochemical staining for p53 (×200). Nuclear overexpression of p53 protein is shown in the papillary carcinoma cells.**Fig. 2.** Immunohistochemical staining for Ki-67 (×100). Nuclear immunoreactivity of Ki-67 is observed in less than 5% of tumor cells, so this was classified as 'negative'.

염색 결과 판독은 2명의 병리 전문의에 의하여 과거의 조직병리학적, 임상적 정보 없이 시행되었다. p53과 Ki-67의 경우 1,000개의 cell 격자를 이용하여 양성으로 나온 종양세포의 비율을 %로 정하였다. p53은 전체 세포의 10% 이상이 염색될 때 양성으로 분류하였고(Fig. 1), Ki-67은 염색 결과 전체 세포의 5% 이상이 염색될 때 양성으로 판단하였다(Fig. 2). 5%에서 10%사이를 'low proliferative', 10% 이상을

Table 2. p53, Ki-67 and galectin-3 immunohistochemical staining in papillary thyroid carcinoma tissues

	p53	Ki-67	Galectin-3
Negative	214	147	13
Positive	204	LP* 256 HP [†] 9	435
Positive rate	48.8%	64.3%	97.0%

*LP = low proliferative; [†]HP = high proliferative.

**Fig. 3.** Immunohistochemical staining for galectin-3 (×400). Cytoplasmic immunoreactivity of galectin-3 is observed in the papillary thyroid carcinoma cells.

'high proliferative'로 분류하였다. Galectin-3의 경우 염색된 세포의 밀도가 높은 부분을 광학 현미경으로 400배 시야에서 10개 관찰하였는데, 세포질 또는 핵이 진한 갈색으로 염색되는 세포를 양성으로 판단하였다(Fig. 3).

통계 처리는 윈도우형 SPSS (ver. 13.0) 통계 프로그램을 사용하여, 교차분석에서는 Pearson의 Chi-square 검정과 Fisher의 정확확률 검정을, 평균치 분석에서는 Student t-test와 ANOVA 검정으로 분석하였고, P값이 0.05 이하인 경우를 통계학적으로 유의한 것으로 판정하였다.

결 과

1) p53

모두 418예의 갑상선유두암 조직에서 p53 발현의 면역조직화학 염색을 시행하였으며, 그 중 204예에서 양성으로 나타나, 48.8%의 양성률을 보였다(Table 2). 염색된 모든 예에서 세포의 핵에 국한되어 갈색으로 염색되었다. p53의 염색 여부는 여러 임상병리학적 요인들 중 암세포의 갑상선 주위조직침습과 관련이 있었다. 즉, p53 양성 결과를 보인 204

Table 3. Relationship between overexpression of p53 protein and clinicopathologic features of PTC

	p53 (n=418)		P value
	Negative	Positive	
Sex			NS*
Female	191	184	
Male	23	20	
Mean age (year) (\pm SD)	47.04 (\pm 11.66)	47.58 (\pm 11.23)	NS*
Age group			NS*
Under 45 years	88	86	
45 years and older	125	119	
Extrathyroidal extension			<0.001
Absent	100	59	
Present	114	145	
Lymphatic invasion			NS*
Absent	210	197	
Present	3	7	
Vascular invasion			NS*
Absent	203	184	
Present	4	7	
Multicentricity			NS*
Absent	166	146	
Present	48	58	
Tumor size (cm) (\pm SD)	1.00 (\pm 0.57)	1.12 (\pm 0.74)	NS*
Lymph node metastasis			NS*
Absent	55	70	
Present	70	71	
Number of metastatic lymph nodes	2.43 (\pm 4.67)	1.67 (\pm 2.60)	NS*
T stage			0.002
T1	103	65	
T2	4	1	
T3	98	130	
T4a	9	8	
N stage			NS*
N0	55	70	
N1a	57	57	
N1b	13	114	
M stage			NS*
0	213	203	
1	1	1	
Stage			NS*
I	133	104	
II	2	1	
III	66	87	
IVA	13	11	
IVB	0	0	
IVC	1	1	

*NS = not significant.

Table 4. Relationship between overexpression of Ki-67 and clinicopathologic features of PTC

	Ki-67 (n=412)		P value
	Negative	Positive	
Sex			NS*
Female	133	236	
Male	14	29	
Mean age (year) (\pm SD)	47.63 (\pm 11.32)	47.24 (\pm 11.6)	NS*
Age group			NS*
Under 45 years	59	111	
45 years and older	88	154	
Extrathyroidal extension			NS*
Absent	59	98	
Present	88	167	
Lymphatic invasion			NS*
Absent	145	256	
Present	1	9	
Vascular invasion			NS*
Absent	140	241	
Present	2	9	
Multicentricity			NS*
Absent	109	196	
Present	38	69	
Tumor size (cm) (\pm SD)	0.96 (\pm 0.55)	1.12 (\pm 0.71)	0.024
Lymph node metastasis			NS*
Absent	42	82	
Present	44	95	
Number of metastatic lymph nodes	2.20 (\pm 4.68)	1.87 (\pm 3.04)	NS*
T stage			NS*
T1	62	102	
T2	3	2	
T3	76	149	
T4a	6	12	
N stage			NS*
N0	42	82	
N1a	39	74	
N1b	5	21	
M stage			NS*
0	147	263	
1	0	2	
Stage			NS*
I	83	149	
II	1	2	
III	57	94	
IVA	6	19	
IVB	0	0	
IVC	0	2	

*NS = not significant.

예 중 145예(71.1%)에서 주위조직침습을 보이며, 214예 중 114예(53.3%)에서 주위조직침습을 보인 p53 음성군에 비해 통계적으로 유의하게 높게 나타났다($P < 0.001$)(Table 3).

2) Ki-67

모두 412예의 갑상선유두암 조직에서 Ki-67에 대하여 면역조직화학 염색을 시행한 결과 147예(35.7%)에서 음성, 265예(64.3%)에서 전체 세포 핵의 5% 이상이 염색되어 양성으로 판정되었다. 양성 결과를 보인 예 중 256예(62.1%)에서는 5%에서 10%사이의 세포가 염색되어 'low proliferative'로 9예(2.2%)에서는 10% 이상의 세포가 염색되어 'high proliferative'로 분류하였다(Table 2). Ki-67 발현이 양성인 군의 종양의 평균 크기는 1.12 ± 0.71 cm로 음성군의 0.96 ± 0.55 cm 보다 통계적으로 유의하게 컸다($P = 0.024$)(Table 4).

3) Galectin-3

Galectin-3 발현의 면역조직화학 염색을 시행한 총 448예의 갑상선유두암 조직에서 435예(97.0%)에서 양성, 13예(3.0%)에서 음성 결과를 나타내었다(Table 2). Galectin-3의 발현은 주로 세포질과 핵막에서 나타났으며, 핵 내에서는 관찰되지 않았다. Galectin-3의 발현과 조사된 여러 임상병리학적 요인들과의 관련성은 발견할 수 없었으며, p53과 Ki-67의 면역조직화학 염색 결과와도 관련이 없었다(Table 5).

4) p53과 Ki-67의 상호관련성

p53의 면역조직화학 염색의 결과에 따라 Ki-67의 발현에 유의한 차이를 보였다($P < 0.001$). 즉, p53 염색이 음성 결과를 보인 212예 중 102예(48.1%)에서만 Ki-67의 발현이 양성으로 나타난 데 반해, p53 염색이 양성 결과를 보인 198예 중에서 161예(81.3%)에서 Ki-67의 발현이 양성으로 나타났다(Table 6). 저자들은 앞서 언급한 p53 발현과 갑상선유두암의 주위조직침습과의 관련성이 Ki-67의 발현 여부에 따라 어떠한 영향을 받는지, 반대로 Ki-67의 발현과 종양의 크기와의 관련성이 p53의 발현 여부에 따라 어떠한 영향을 받는지 세분하여 조사하였다. 그 결과, p53 양성 군 중에서 Ki-67 음성인 군과 양성인 군 사이에 주위조직침습 비율은 각각 75.7%, 69.6%로 유의한 차이가 없었으며, 두 군 모두 p53 음성 군의 53.3%보다 유의하게 높은 주위조직침습 비율을 나타내었다(Table 7). 그러나, Ki-67 양성 군 내에서 p53 음성 군과 p53 양성 군의 갑상선유두암 종양의 평균 크

Table 5. Relationship between expression of galectin-3 and clinicopathologic features of PTC

	Galectin-3 (n=448)		P value
	Negative	Positive	
Sex			NS*
Female	10	389	
Male	3	46	
Mean age (year) (\pm SD)	48.50 (± 14.3)	47.32 (± 11.40)	NS*
Age group			NS*
Under 45 years	10	200	
45 years and older	0	238	
Extrathyroidal extension			NS*
Absent	6	176	
Present	4	259	
Lymphatic invasion			NS*
Absent	10	423	
Present	0	10	
Vascular invasion			NS*
Absent	10	404	
Present	0	11	
Multicentricity			NS*
Absent	8	328	
Present	2	107	
Tumor size (cm) (\pm SD)	0.83 (± 0.56)	1.05 (± 0.69)	NS*
Lymph node metastasis			NS*
Absent	3	131	
Present	2	139	
Number of metastatic lymph nodes	6.60 (± 12.64)	1.82 (± 3.26)	NS*
T stage			NS*
T1	7	182	
T2	0	7	
T3	3	228	
T4	0	18	
N stage			NS*
N0	3	131	
N1a	1	115	
N1b	1	21	
M stage			NS*
0	10	433	
1	1	2	
Stage			NS*
I	7	253	
II	0	3	
III	3	155	
IVA	0	23	
IVB	0	0	
IVC	1	2	

*NS = not significant.

Table 6. Relation between p53 expression and Ki-67 expression

		Ki-67		P value
		Negative	Positive	
p53	Negative	110 (51.9%)	102 (48.1%)	<0.001
	Positive	37 (18.7%)	161 (81.3%)	

Table 7. Difference in extrathyroidal extension rate of PTC according to expression of p53 and Ki-67

		Extrathyroidal extension		P value
		Absent	Present	
p53 (-)		100 (46.7%)	114 (53.3%)	0.011*, 0.001†
p53 (+)	Ki-67 (-)	9 (24.3%)	28 (75.7%)	NS
	Ki-67 (+)	49 (30.4%)	112 (69.6%)	

*P value for difference between p53 (-) group and p53 (+) Ki-67 (-) group; †P value for difference between p53 (-) group and p53 (+) Ki-67 (+) group.

Table 8. Difference in tumor size of PTC according to expression of p53 and Ki-67

		Tumor size (cm) (\pm SD)	P value
Ki-67 (-)		0.96 (\pm 0.56)	NS*, 0.004†
Ki-67 (+)	p53 (-)	1.00 (\pm 0.59)	
	p53 (+)	1.19 (\pm 0.78)	

*P value for difference between Ki-67 (-) group and Ki-67 (+) p53 (-) group; †P value for difference between Ki-67 (-) group and Ki-67 (+) p53 (+) group.

기는 각각 1.00 ± 0.59 cm, 1.19 ± 0.78 cm로 p53 양성 군에서 더 컸다($P < 0.05$). 또, Ki-67 양성인면서, p53 양성인 군의 종양의 평균 크기는 Ki-67 음성 군의 평균 크기(0.96 ± 0.56 cm)보다 더욱 명확히 컸으며($P < 0.01$), Ki-67이 양성이지만, p53이 음성인 군의 종양의 평균 크기는 Ki-67 음성 군과 통계학적인 차이가 없었다(Table 8).

고 찰

p53 종양억제유전자가 생산하는 p53 단백질은 세포주기 조절, 손상된 DNA의 복구, 세포자연사 등 다양한 조절 기능을 담당하는 것으로 알려져 있다.(9) p53 유전자에서 변이 나 결손 등 이상이 생기면, 손상된 p53 DNA의 증폭이 일어나거나 또는 p53 단백질의 종양발생억제기능이 소실되

어 악성화로 진행된다고 생각된다.(10,11) p53 돌연변이는 갑상선여포암에서 90%, 여포선종에는 15%정도에서 발생하는 것을 이용하여 여포성종양의 악성여부를 감별하는데 이용되기도 하지만,(12) 갑상선유두암에서는 암 발생과정 중 후기에 발생하는 현상으로 생각되며 분화암보다는 미분화암과 역형성암에서 빈도가 높다.(5,6) 면역조직화학 염색에서 p53 단백질이 과발현하여 염색되는 원인은 p53 유전자가 missense 돌연변이를 일으키면 p53 단백질의 구조적 변화를 초래하여 반감기가 길어지기 때문으로 알려져 있다. 그러나 p53 유전자의 nonsense, deletion 혹은 truncation 돌연변이가 발생한 경우에는 면역조직화학 염색으로 발견할 수 없으며, 정상적인 p53 유전자로 인해 만들어진 p53 단백질도 여러 가지 이유로 과발현될 수 있다는 것이 보고되었다.(13,14) 그러므로 면역조직화학염색에서 발견되는 p53 단백질의 과발현이 항상 p53 유전자의 돌연변이의 발생을 의미하지는 않지만, 일반적으로 약 95%의 일치도를 보이는 것으로 알려져 있다.(15) 갑상선유두암에서 p53 단백질의 과발현되는 비율은 11~59%로 보고되었으며,(16,17) 본 연구에서는 48.8%에서 과발현이 발견되었다. 갑상선유두암의 예후인자로서의 p53 돌연변이의 중요성에 대해서는 논란이 있다. 일부 저자들은 종양의 크기, 주위조직침습 및 생존율과 관련이 있다고 보고하였으나,(18-20) 다른 연구에서는 이러한 관련성을 발견하지 못하였다.(21,22) 본 연구에서는 짧은 추적기간으로 인해 p53 단백질의 과발현과 재발 혹은 무병생존율과의 관련성을 조사할 수 없었으나, p53 단백질의 과발현이 있을 때 더 많은 갑상선유두암의 주위조직침습을 보여서 암의 진행과 관련이 있음을 시사하였다.

Ki-67은 분열 중인 세포에서만 검출되는 증식세포핵단백으로 종양의 증식능을 측정할 수 있는 간편하고 신뢰성이 높은 방법으로 알려져 있으며,(23) 높은 Ki-67의 발현 지수는 다양한 암에서 나쁜 예후와의 관련성이 보고되었다.(24-26) 갑상선유두암에서는 암종이 갑상선에 국한된 경우보다 주위조직침습이 있는 경우에 Ki-67이 높기 때문에 Ki-67이 갑상선유두암의 악성도와 관련이 있다는 보고가 있다.(27) 본 연구에서는 Ki-67의 발현과 암종의 주위조직침습과의 관계는 발견할 수 없었고, Ki-67의 발현이 증가된 경우 갑상선유두암 종양의 크기가 의미 있게 큰 것을 알 수 있었다. 흥미로운 것은 p53 단백질이 과발현된 경우 Ki-67의 발현이 높게 나타난 것이다. 이는 Ki-67의 발현이 세포증식을 조절하는 다양한 과정의 결과를 보여주는 표지자이며, p53 유전자의 돌연변이가 갑상선유두암세포의 증

식을 유발하는 한 인자임을 보여준다고 할 수 있다. 또 p53 단백질의 과발현이 있는 군은 Ki-67의 과발현 유무와 상관없이 갑상선유두암의 주위조직침습이 많았으나, Ki-67의 과발현 군에서는 p53 단백질의 과발현과 동반된 경우에만 Ki-67의 과발현이 없는 군보다 갑상선유두암 암종의 크기가 유의하게 컸으며, p53 단백질의 과발현이 동반되지 않은 경우에는 Ki-67의 과발현이 없는 군과 암종의 크기의 차이가 없었다. 이러한 결과를 근거로 갑상선유두암은 p53 유전자 돌연변이 외에 다양한 경로를 통하여 세포증식을 일으키며, p53 유전자의 돌연변이는 세포증식능과 상관없이 주변조직침습에 관여하나, p53 유전자의 돌연변이로 인해 세포증식이 활발해 질 때는 종양의 크기도 증가한다는 것을 유추할 수 있다.

Galectin-3는 갑상선유두암으로 전환된 세포를 체외에서 유지시키는데 필요하지만 정상 조직이나 양성 갑상선 조직에서는 거의 발현되지 않는다.(28) 그러나 갑상선암에서 galectin-3의 예후인자로서의 의미는 거의 알려져 있지 않다. 갑상선암과 양성 갑상선종양의 조직에서 RT-PCR과 면역조직화학 염색을 이용하여 각각 galectin-3의 mRNA와 단백질의 발현을 평가하고, 임상적 예후인자와의 관련성을 조사한 한 연구에서 갑상선암에서 높은 발현을 나타내었지만, 50예라는 비교적 적은 갑상선유두암 표본수로 인해 임상적 예후인자와의 관련성을 밝히지는 못하였다.(29) 본 연구에서 갑상선유두암에서 97.8%로 매우 높은 galectin-3 발현율을 보였고, 이로 인해 임상병리학적 예후인자들과의 통계학적 관련성을 증명하는데 실패했다. 이처럼 galectin-3는 갑상선암에서 발현율이 매우 높으므로 예후와의 관련성을 찾기 위해서는 발현여부가 아닌 염색 정도를 등급화하거나, RT-PCR 같은 정량적인 검사법을 이용하여 발현 정도를 비교해 보아야 할 것으로 생각된다.

결 론

p53 단백질의 발현은 주위조직침습과 관련이 있고, Ki-67의 발현을 증가시킨다. p53 단백질의 발현과 동시에 Ki-67의 발현이 증가되어 있을 때는 그렇지 않은 경우에 비해 종양의 크기가 크다. 그러므로 갑상선유두암 조직에서 p53 단백질과 Ki-67의 면역조직화학 염색은 예후의 예측에 도움이 될 수 있다. 그러나 galectin-3의 발현 여부는 임상병리학적 예후인자와 관련이 없다.

REFERENCES

- 1) Ministry for Health, Welfare and Family Affairs. Annual Report of cancer incidence (2005) and survival (1993-2005) in Korea. 2008.
- 2) Ain KB. Papillary thyroid carcinoma. Etiology, assessment, and therapy. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1995;24:711-60.
- 3) Mazzaferri EL, Jhiang SM. Long-term impact of initial surgical and medical therapy on papillary and follicular thyroid cancer. *Am J Med* 1994;97:418-28.
- 4) Levine AJ, Momand J, Finlay CA. The p53 tumour suppressor gene. *Nature* 1991;351:453-6.
- 5) Farid NR. P53 mutations in thyroid carcinoma: tidings from an old foe. *J Endocrinol Invest* 2001;24:536-45.
- 6) Ito T, Seyama T, Mizuno T, Tsuyama N, Hayashi T, Hayashi Y, et al. Unique association of p53 mutations with undifferentiated but not with differentiated carcinomas of the thyroid gland. *Cancer Res* 1992;52:1369-71.
- 7) Park SS, Huh JR, Lee SS, Kang YK, Heo DS, Kim CW. Correlation between clinical outcome and proliferation index in diffuse large B-cell lymphoma. *Korean J Pathol* 1999;33:475-82.
- 8) Fukumori T, Kanayama HO, Raz A. The role of galectin-3 in cancer drug resistance. *Drug Resist Updat* 2007;10:101-8.
- 9) Yeo CJ. Tumor suppressor genes: a short review. *Surgery* 1999;125:363-6.
- 10) Dobosz T, Lukieniczuk T, Sasiadek M, Kuczyńska A, Jankowska E, Blin N. Microsatellite instability in thyroid papillary carcinoma and multinodular hyperplasia. *Oncology* 2000;58:305-10.
- 11) Nigro JM, Baker SJ, Preisinger AC, Jessup JM, Hostetter R, Cleary K, et al. Mutations in the p53 gene occur in diverse human tumour types. *Nature* 1989;342:705-8.
- 12) Nasir A, Catalano E, Calafati S, Cantor A, Kaiser HE, Coppola D. Role of p53, CD44V6 and CD57 in differentiating between benign and malignant follicular neoplasms of the thyroid. *In Vivo* 2004;18:189-95.
- 13) Fritsche M, Haessler C, Brandner G. Induction of nuclear accumulation of the tumor-suppressor protein p53 by DNA-damaging agents. *Oncogene* 1993;8:307-18.
- 14) Park YK, Park HR, Chi SG, Ushigome S, Unni KK. Overexpression of p53 and absent genetic mutation in clear cell chondrosarcoma. *Int J Oncol* 2001;19:353-7.
- 15) Matias-Guiu X, Cuatrecasas M, Musulen E, Prat J. p53 expression in anaplastic carcinomas arising from thyroid papillary carcinomas. *J Clin Pathol* 1994;47:337-9.
- 16) Chen BK, Ohtsuki Y, Furihata M, Takeuchi T, Iwata J, Liang SB, et al. Co-overexpression of p53 protein and epidermal growth factor receptor in human papillary thyroid carcinomas

- correlated with lymph node metastasis, tumor size and clinicopathologic stage. *Int J Oncol* 1999;15:893-8.
- 17) Dobashi Y, Sakamoto A, Sugimura H, Mernyei M, Mori M, Oyama T, et al. Overexpression of p53 as a possible prognostic factor in human thyroid carcinoma. *Am J Surg Pathol* 1993;17:375-81.
 - 18) Godballe C, Asschenfeldt P, Jorgensen KE, Bastholt L, Clausen PP, Hansen TP, et al. Prognostic factors in papillary and follicular thyroid carcinomas: p53 expression is a significant indicator of prognosis. *Laryngoscope* 1998;108:243-9.
 - 19) Hosal SA, Apel RL, Freeman JL, Azadian A, Rosen IB, LiVolsi VA, et al. Immunohistochemical Localization of p53 in Human Thyroid Neoplasms: Correlation with Biological Behavior. *Endocr Pathol* 1997;8:21-8.
 - 20) Holm R, Nesland JM. Retinoblastoma and p53 tumour suppressor gene protein expression in carcinomas of the thyroid gland. *J Pathol* 1994;172:267-72.
 - 21) Goldenberg JD, Portugal LG, Wenig BL, Ferrer K, Wu JC, Sabnani J. Well-differentiated thyroid carcinomas: p53 mutation status and microvessel density. *Head Neck* 1998;20:152-8.
 - 22) Zedenius J, Larsson C, Wallin G, Backdahl M, Aspenblad U, Hoog A, et al. Alterations of p53 and expression of WAF1/p21 in human thyroid tumors. *Thyroid* 1996;6:1-9.
 - 23) Brown DC, Gatter KC. Monoclonal antibody Ki-67: its use in histopathology. *Histopathology* 1990;17:489-503.
 - 24) Hoos A, Lewis JJ, Antonescu CR, Dudas ME, Leon L, Woodruff JM, et al. Characterization of molecular abnormalities in human fibroblastic neoplasms: a model for genotype-phenotype association in soft tissue tumors. *Cancer Res* 2001;61:3171-5.
 - 25) Hoos A, Stojadinovic A, Mastorides S, Urist MJ, Polsky D, Di Como CJ, et al. High Ki-67 proliferative index predicts disease specific survival in patients with high-risk soft tissue sarcomas. *Cancer* 2001;92:869-74.
 - 26) Molino A, Micciolo R, Turazza M, Bonetti F, Piubello Q, Bonetti A, et al. Ki-67 immunostaining in 322 primary breast cancers: associations with clinical and pathological variables and prognosis. *Int J Cancer* 1997;74:433-7.
 - 27) Carr K, Heffess C, Jin L, Lloyd RV. Immunohistochemical analysis of the thyroid carcinoma initializing antibodies to p53 and Ki-67. *Appl Immunohistochem* 1993;1:201-7.
 - 28) Yoshii T, Inohara H, Takenaka Y, Honjo Y, Akahani S, Nomura T, et al. Galectin-3 maintains the transformed phenotype of thyroid papillary carcinoma cells. *Int J Oncol* 2001;18:787-92.
 - 29) Kim JH, Han DH, Oh SJ, Rho YS, Ahn HY, Shin HS, et al. Clinical significance of the expression of galectin-3 in thyroid tumor. *Korean J Otolaryngol - Head Neck Surg* 2006;49:812-6.